



## Oponentský posudek magisterské diplomové práce

**Autorka:** Bc. Tereza Liduchová

**Název:** Detekce virových zoonóz v biologických vzorcích z polárních oblastí

**Vedoucí práce:** prof. RNDr. Libor Grubhoffer, CSc., Hon. D.Sc.

**Konzultant:** RNDr. Jana Elsterová

**Oponentský posudek vypracovala:** Mgr. Jaroslava Lieskovská PhD., Přírodovědecká  
fakulta, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Předložená diplomová práce se zabývá detekcí dvou zoonotických virů, viru Sindbis z komárů *Ochlerotatus nigripes* sesbíraných v oblastech Arktidy, konkrétně v Gronsku a na Svalbardu a detekcí viru ptačí chřipky v populaci racka tříprstého odchyceného/žijícího na Svalbardu. Kromě toho je součástí práce charakterizace pozitivní kontroly viru Sindbis. Práce svým zaměřením doplňuje již déle probíhající skrínig virových zoonóz z oblasti Arktidy, který může odhalit zajímavé data související se změnou klimatu a rozvojem migrace. Z hlediska delšího časovém horizontu jsou proto tato data obzvlášť přínosná. Výsledek testování poměrně vysokého počtu biologických vzorků, či už na přítomnost Sindbis viru nebo viru ptačí chřipky vyšel vesměs negativně. Tato skutečnost je obsáhle diskutována.

Předložená práce má rozsah 82 stran a dle zvyklostí je členěná na úvod, cíle, materiál a metody, výsledky, diskuzi, závěr, seznam literatury a použitou literaturu. Rozsah a vzájemný poměr jednotlivých částí je přiměřený a logická struktura práce vyhovující.

V úvodu, který čítá 24 stran, nás autorka zajímavou a čtivou formou uvádí do problematiky zoonóz v oblasti Arktidy. Definiuje zoonózy a popisuje možné způsoby přenosu zoonotických nákaz. Samostatné kapitoly jsou pak věnované arbovirům a viru chřipky. Kromě základní charakteristiky arbovirů a jejich přenašečů autorka víc popisuje výskytu konkrétních druhů arbovirů a přenašečů v polárních oblastech. Pozornost je taky věnována životnímu cyklu arbovirů ve vektoru a způsobů přenosu arbovirů z vektora na hostitele. V další části autorka popisuje virus ptačí chřipky, jeho klasifikaci na základe patogenity, strukturní charakteristiku a důvody jeho variability. Následuje kapitola o výskytu a šíření tohoto viru v souvislosti s migrací ptactva. Literární přehled je vhodně doplněn několika obrázky a tabulkami. Zpracování této části práce je velice zdařilé, autorka uvádí pouze relevantní informace vzhledem k její experimentální části práce. Text je i stylisticky na dobré úrovni, s akceptovatelným počtem překlepů.

Cíle jsou jasně definovány.

Kapitola Materiál a metody je sepsána na 17 stranách, je přehledně členěná a doplněná ilustracemi a tabulkami dokumentujícími jasně průběh experimentální části.

Kapitola výsledků je logicky členěná dle daných cílů. Celkem je obsažena na 9 stranách a obsahuje 11 přehledných obrázků a 1 tabulku. Obrázky mají dostatečnou dokumentační kvalitu, popisky jsou výstižné. Bohužel až na přípravu pozitivní kontroly viru Sindbis jsou výsledky negativní.



Část diskuse je nadstandardně rozsáhlá. Autorka na 8 stranách diskutuje své výsledky, nabízí akceptovatelné vysvětlení příčin negativního zachytu arbovirů v sledovaných oblastech. V některých částech se zbytečně opakuje to, co již bylo zmíněno v úvodu, ale přesto považuji tuto část za zdařilou a z mé strany bez výhrad.

Závěrečná část shrnuje získaná data a takto odpovídá na stanovené cíle. Vzhledem k negativnímu zachytu virů nebyla plánovaná charakteristika kmenů a fylogenetická analýza prováděna.

Seznam literatury je psán jednotným stylem na 15 stranách.

#### Připomínky:

1. Na straně 10, uvádíte řád *Bunyavidirae*, správně má být čeleď *Bunyaviridae* řád *Bunyavirales*. Pobobná chyba se objevuje v tabulce I na str. 11. V této tabulce je rod uveden jako *Orthobunyavirales*, správně má být *Orthobunyavirus*. V této tabulce jsou uvedeny navíc primery pro INKOO virus, ve výsledcích jsem nenašla žádnou další zmínku o tomto vire, informace mi připadá tedy nadbytečná.

2. Na str. 29 píšete, že krev byla centrifugována při 2000 g, předpokládám, že jste myslela 200 g.

#### Otázky:

1. V diskusi připouštíte, že za nulový záchyt SINDV a IAV může snížená kvalita RNA, s čím plně souhlasím. Nepokusila jste se o měření exprese nějakého house-keepingového genu jako o jiné alternativě zhodnocení kvality RNA?

2. Kvalitu vyizolované ptačí RNA ilustruje snímek agarózového gelu s 28S podjednotkou. Podobný obrázek z hmyzí RNA chybí. Není k dispozici? Na str. 58 píšete o 28S, 18S a 5,8S ribozomálních podjednotkách u savčí RNA. Zmiňujete, že u hmyzu je to jinak, vysvětlíte jak?

3. V případě uspokojivé kvality RNA vzorku, jak pravděpodobný je pozitivní záchyt pokud vzorek naředíte 60 krát? Je známo, kolik virové RNA může být v jednom komáři? Jaké množství RNA jste běžně získala po izolaci z 30 komárů?

4. Za přenašeče SINDBIS viru se považují komáři rodu *Culex*. V diskusi zmiňujete, že kompetence komárů rodu *Ochlerotatus nigripes* je otázná. Na str. 14 ho označujete jako „můstkový vektor“. Můžete tento pojem blíže vysvětlit?

5. Diplomová práce Jany Mullerové (2018) je podobně zaměřena. Zajímalo by mě, nakolik se vzorky, které zpracovávala ona, shodují s vašimi.

6. Při porovnání replikace viru SINDBIS v savčí buněčné linii BHK-21 a komáří linii C6/36 dosahoval titr vyšších hodnot v komáří linii. Uvádíte, že důvodem je pravděpodobně absence antivirové obrany, konkrétně RNA interference. Vysvětlíte nám tento pojem prosím. Jaká je kinetika nebo růstová křivka Sindbis viru v buňkách BHK-21 a C6/36?



Závěrem konstatuji, že předložená diplomová práce je navzdory negativním výsledkům na dobré úrovni. Práce je výborně napsaná a metodika a výsledky jsou pečlivě zpracovány. Autorka prokázala schopnost pracovat s literaturou, kriticky vyhodnocovat své výsledky a osvojila si řadu molekulárne-biologických metod. Práce splňuje všechny předpoklady kladené na diplomovou práci na Přírodovědecké fakultě Jihočeské univerzity, a proto ji doporučuji k obhajobě.

V Českých Budějovicích dne 26. 6. 2020.

Mgr. Jaroslava Lieskovská, Ph.D.

.....  
podpis